UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA
DEPARTAMENTO DE NEUROCIÊNCIA E COMPORTAMENTO

HEYDI SEGUNDO TABARES

Avaliação visual da sensibilidade ao contraste em crianças expostas e infectadas intra-útero pelo zika vírus

São Paulo
2019

HEYDI SEGUNDO TABARES

Avaliação visual da sensibilidade ao contraste em crianças expostas e infectadas intra-útero pelo zika vírus

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Mestre em Neurociências e Comportamento.

Orientador: Prof. Livre-Docente Dr. Marcelo Fernandes da Costa

São Paulo
2019

Agradecimentos

À CAPES, pelo apoio financeiro e institucional.

Ao Prof. Dr. Marcelo Fernandes da Costa pelas orientações e conselhos durante o processo do mestrado e pelo grande aprendizado oferecido não só na área da pesquisa, como também na minha trajetória acadêmica. À professora Dora Ventura pelo carinho de sempre e os ensinamentos.

Aos membros da banca, Prof. Dr. Givago da Silva Souza e o Prof. Dr. Francisco Max Damico por se disponibilizarem para colaborar na construção desse trabalho.

Para toda minha família, especialmente aos meus pais pelo exemplo de dedicação.

Aos integrantes do nosso laboratório, colegas e amigos pelo apoio, por fazer eu me sentir parte da família do Laboratório de Visão do Instituto de Psicologia da USP.

Agradeço à FAPESP pelo auxílio concedido (Bolsa Mestrado FAPESP 2016/21573-7) que foi fundamental para a realização desta pesquisa.

Resumo

O vírus Zika é uma arbovirose emergente que é transmitida pelos mosquitos do gênero *Aedes*. A infecção, que se caracteriza clinicamente como uma síndrome febril aguda, muito inespecífico parecido ao dengue, está associada com alterações no sistema nervoso, bem como microcefalias no recém-nascido. O desenvolvimento infantil é um processo contínuo e muito dinâmico que inclui entre outras muitas funções, a visão. A evolução da visão inicia-se na vida intrauterina e continua após o nascimento. O período intra-útero é essencialmente importante para o futuro desenvolvimento visual da criança. Assim, as alterações causadas pela infecção pelo Zika têm demonstrado repercutir no futuro desenvolvimento da criança. Uma forma de avaliar o sistema visual humano é avaliando a função de sensibilidade ao contraste. A FSC descreve o desempenho do sistema visual em níveis diferentes de contrastes. Neste trabalho de pesquisa está se avaliando a função de sensibilidade ao contraste em bebês cujas mães apresentaram Zika vírus na gestação. Foram feitos testes em 77 crianças com faixa etária de 2 a 24 meses, mais da metade destas crianças formará parte do grupo de controle. A função de sensibilidade ao contraste foi avaliada por meio do Programa de Psicofísica Psykinematix. Foi realizado teste descritivo completo para cada grupo e faixa etária. Análises comparativas entre os grupos foram realizadas com bases nas diferenças entre os valores individuais dos grupos controle e exposto, por meio de Análise de Variância de 1 Via. Correlações entre idade e sensibilidade ao contraste foram realizadas pelo teste de *Spearman Rank Order* para cada grupo e frequências espaciais. Comparando o grupo exposto e o grupo infectado não encontramos diferença estatística para nenhuma das frequências espaciais. Realizamos correlação entre idade e valor de sensibilidade ao contraste para as frequências testadas. Os dados preliminares mostraram haver uma correlação moderada significativa entre a idade e os valores de sensibilidade ao contraste para a frequência 0,6 cpd ($r = 0,45$; $p < 0,05$) para o grupo exposto. Nosso método se mostrou como uma ferramenta eficaz para estudos de sensibilidade ao contraste espacial de luminância nesta população. O desenvolvimento de métodos de medida de funções visuais em bebês e crianças não verbais é de grande importância, pois há pouca disponibilidade de metodologia comportamental para esta faixa etária. O desenvolvimento deste programa de medida permitiu que realizássemos avaliações de sensibilidade ao contraste em bebês e crianças com

Zika vírus, discutidos na próxima sessão desta discussão. Outro resultado que mostra a robustez de nosso estudo está no fato dos resultados de nossas medidas estarem similares às medidas realizadas em bebês desta idade por outros pesquisadores para as mesmas frequências espaciais. Concluimos que as medidas de sensibilidade ao contraste em bebês com exposição ao Zika vírus não apresentaram redução da sensibilidade ao contraste em comparação com bebês não expostos.

Palavras-chaves: Flavivirus. Microcefalia. Síndrome congênita do Zika vírus. Bebês. Zika virus. Desenvolvimento visual. Sensibilidade ao contraste.

Abstract

The Zika virus is an emerging arbovirus that is transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*. The infection, which is clinically characterized as an acute, very nonspecific febrile syndrome similar to dengue, is associated with changes in the nervous system as well as microcephaly in the newborn. Child development is a continuous and very dynamic process that includes many functions as vision. The evolution of vision begins in intrauterine life and continues after birth. The intra-uterus period is essentially important for the child's future visual development. Thus, the changes caused by the infection by Zika have been shown to have an impact on the child's future development. One way of assessing the human visual system is by evaluating the contrast sensitivity function. FSC describes the performance of the visual system at different levels of contrasts. In this research, the contrast sensitivity function is evaluated in infants whose mothers presented Zika virus during pregnancy. Were tested 77 children aged 2 to 24 months, half of these children will be part of the control group. The contrast sensitivity function was evaluated through Psykinematix Psychophysics Program. A complete descriptive test was performed for each group and age group. Comparative analyzes between the groups were performed based on the differences between the individual values of the control and exposed groups, using one-way analysis of variance. Correlations between age and contrast sensitivity were performed by Spearman Rank Order test for each group and spatial frequencies. Comparing the exposed group and the infected group we found no statistical difference for any of the spatial frequencies. We performed a correlation between age and value of sensitivity to the contrast for the frequencies tested. Preliminary data showed a moderate significant correlation between age and contrast sensitivity values for the 0.6 cpv ($r = 0.45$, $p < 0.05$) for the exposed group. Our method proved to be an effective tool for studies of luminance spatial contrast sensitivity in this population. The development of methods for measuring visual function in infants and nonverbal children is of great importance, as there is little availability of behavioral methodology for this age group. The development of this measurement program allowed us to perform contrast sensitivity assessments in infants and children with Zika virus, discussed in the next section of this discussion. Another result that shows the robustness of our study is that the results of our measurements are similar to measurements made on babies of this age by other researchers for the same spatial

frequencies. We conclude that the contrast sensitivity measurements in infants exposed to Zika virus showed no reduction in contrast sensitivity compared to unexposed infants.

Key-words: Flavivirus. Microcephaly. Congenital syndrome of Zika virus. Babies. Zika virus. Visual development. Contrast sensitivity.

Lista de abreviaturas e siglas

ZIKV: Zika vírus

YFV: Vírus da Febre Amarela

NCR: Regiões não codificantes

FA: Febre Amarela

PCR: Reação de Cadeia da Polimerase

FAV: Fundação Altino Ventura

OMS: Organização Mundial da Saúde

RNA: Ácido Ribonucleico

DENV: Vírus do Dengue

CHIKV: Vírus do Chikungunya

HPSC: Células Troco Pluripotentes Humanas

RT-PCR: Amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase, antecedida de Transcrição Reversa

IgG: Imunoglobulina G

IgM: Imunoglobulina M

IgA: Imunoglobulina A

FSC: Função de Sensibilidade ao Contraste

SVH: Sistema Visual Humano

SV: Sistema Visual

AV: Acuidade Visual

MC: Magnocelular

PC: Parvocelular

PVEv: Potenciais Visuais Evocados de Varredura

2-AFC: 2 Alternativas de Escolha Forçada

Sumário

1. INTRODUÇÃO	6
1.1. Etiologia	6
1.2. Transmissão	8
1.3. Manifestações clínicas	10
1.4. Diagnóstico laboratorial	13
1.5. Tratamento	14
1.6. Desenvolvimento Visual	14
1.7. Sensibilidade ao Contraste	19
2. OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo Geral	21
2.2 Objetivos Específicos	22
3. METODOLOGIA	23
3.1 Sujeitos	23
3.2 Os critérios de inclusão foram:	24
3.3 Os critérios de exclusão são:	24
3.4 Equipamento	24
3.5 Estímulos	25
3.6 Procedimento	28
3.7 Análise Estatística	28
4. RESULTADOS	29
5. DISCUSSÃO	34
5.1 Desenvolvimento de Teste Psicofísico	34
5.2 Medidas em Bebês Expostos ao Zika Vírus	35
6. CONCLUSÕES	37
7. REFERÊNCIAS	38
8. ANEXOS	42
8.1 ANEXO A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	42
9. APÊNDICE	45

1. INTRODUÇÃO

1.1. Etiologia

O vírus Zika (ZIKV) pertence à família *Flaviridae* e ao gênero *Flavivirus*, sendo aparentado do ponto de vista evolutivo com outros arbovírus, como o são o vírus dengue, vírus da febre-amarela (YFV) e vírus do Nilo Ocidental. Os vírus contêm genoma de ácido ribonucleico (RNA) de cadeia simples de polaridade positiva (Pinto Junior, Luz, Parreira, 2015).

O genoma de ZIKV consiste em uma molécula de RNA de sentido positivo de cadeia simples com 10794 kb de comprimento com 2 regiões não codificantes flanqueantes (5' e 3' NCR) e uma única estrutura de leitura aberta longa que codifica uma poliproteína: 5'-C-prM-E-NS1- NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5-3', que é dividido em cápside (C), precursor da membrana (prM), envelope (E) e sete proteínas não estruturais (NS). A proteína E (<53 kDa) é a principal proteína da superfície do vírus e está envolvido em vários aspectos do ciclo viral, mediando a ligação e a fusão de membrana. A proteína NS5 (<103 kDa) é a maior proteína viral cuja porção C-terminal possui atividade RNA-polimerase RNA-dependente (RdRP) e o N-terminal está envolvido no tampão de RNA em virtude do seu processamento devido à atividade de metil transferase. O 3'NCR do genoma ZIKV contém cerca de 428 nucleotídeos, incluindo 27 padrões de dobragem que podem estar envolvidos no reconhecimento por fatores celulares ou virais, tradução, estabilização do genoma, embalagem de RNA ou ciclização (Faye et al., 2014).

O vírus Zika é transmitido por *Aedes aegypti* e que foi originalmente isolado de uma fêmea de macaco *Rhesus* febril na Floresta Zika (daí o nome do vírus), localizada próximo de Entebbe na Uganda, em 20 de abril de 1947. Esse vírus é relacionado ao VFA e dengue, também transmitidos por *Aedes aegypti* e que causam febre hemorrágica (Faye et al., 2014).

Foi isolado, a partir de uma amostra de soro de um macaco *Rhesus* que servia de sentinela para estudo vigilância da febre-amarela (FA). Após análise filogenética do genoma viral, percebeu-se que provavelmente o vírus surgiu nesta localidade em torno de 1920, e após duas fases de migração para o Oeste Africano deu início as duas linhagens africanas. Do Uganda, o vírus terá migrado na década de 1940 para a Ásia e aí originou a linhagem asiática, com surtos registrados na Indonésia e a

epidemia na Micronésia. A linhagem asiática também foi a responsável pelos casos de transmissão autóctone deste vírus, recentemente ocorridos no Brasil (Campos et al., 2015).

Posteriormente, dados sorológicos e entomológicos indicaram infecções por ZIKV no continente africano na Nigéria em 1971 e 1975, Serra Leoa em 1972, Gabão em 1975, Uganda em 1969 e 1970, República Centro-Africana em 1979, Senegal de 1988 a 1999 e Costa do Marfim em 1999. Recentemente, o ZIKV foi detectado no Senegal em 2011 e 2012. Além disso, as infecções por ZIKV na Ásia foram relatadas no Paquistão, na Malásia, na Indonésia em 1977 e 1978, na Micronésia em 2007 e no Camboja em 2010 (Faye et al., 2014).

Embora o ZIKV tenha sido repetidamente isolado, apenas 14 casos humanos foram relatados antes de abril de 2007, quando ocorreu uma epidemia de febre Zika (ZF) na ilha de Yap na Micronésia, onde 49 casos confirmados e 73% dos residentes com mais de 3 anos forneceram evidência sorológica de recente Infecção por ZIKV. Este surto mostrou o potencial de ZIKV como uma doença emergente, que poderia ser diagnosticada como dengue, como aconteceu no início do surto micronésio (Faye et al., 2014).

Nos últimos 10 anos foram documentadas duas epidemias causadas pelo ZIKV na Federação dos Estados da Micronésia (na ilha de Yap), constituindo-se o primeiro foco da doença fora de África e da Ásia (Lanciotti et al., 2008). A doença disseminou-se rapidamente pelas ilhas do Oceano Pacífico sendo detectados em outubro de 2013 os primeiros casos na Polinésia Francesa (PF), onde a situação evoluiu para uma epidemia com cerca de 19.000 casos suspeitos e 284 casos confirmados de infecção pelo ZIKV (Cao-Lormeau, 2014). Em fevereiro de 2014, pela primeira vez nas Américas, casos da doença foram reportados na Ilha de Páscoa (território Chileno no Oceano Pacífico), provavelmente relacionado com o surto na Micronésia e na PF (Besnard et al., 2014). Em 2015 foi confirmada a presença do vírus na região do nordeste do Brasil a partir de isolamento viral em casos suspeitos de dengue.

Antes de abril de 2015, nenhum caso havia sido relatado no Brasil. No entanto, entre abril e novembro de 2015, 18 dos 27 estados brasileiros relataram casos autóctones de ZIKV (WHO, 2016). Após o surgimento do ZIKV no Brasil, observou-se um aumento anual de 20 casos de microcefalia. Em 2015, houve 1248 novos casos suspeitos, uma prevalência de 99,7 por 100.000 vivos. Após o surgimento do

ZIKV no Brasil, observou-se um aumento anual de 20 casos de microcefalia³. Em 2015, houve 1248 novos casos suspeitos, uma prevalência de 99,7 por 100.000 nascimentos vivos (Ministério da Saúde, 2016; WHO, 2016). A partir do surgimento do Zika vírus no Brasil, começam a ser reportados um número alarmante de nascimentos de bebês com microcefalia, observando-se um crescimento anual com uma prevalência de 99,7% por cada 100.000 nascidos vivos. (Ventura et al., 2016). Acredita-se que as primeiras transmissões do vírus começaram no Brasil e rapidamente estenderam-se ao resto do continente. Antes de abril de 2015 não existiam casos reportados da doença no Brasil, no entanto a partir de abril e até novembro desse ano 18 dos 27 estados da federação reportaram casos autônomos de infecção pelo vírus. Até o momento estima-se que mais de um milhão de brasileiros tenham sido infectados pelo vírus do Zika (Ventura et al., 2016).

Em fevereiro de 2015 na Bahia e em São Paulo, começaram os primeiros casos da doença causada pelo vírus Zika, sendo rapidamente confirmada pelo uso de métodos moleculares e, posteriormente, no Rio Grande do Norte, Alagoas, Maranhão, Pará e Rio de Janeiro, mostrando uma grande capacidade de dispersão, somente vista no *Chikungunya* nos últimos tempos, nas Américas (Campos et al., 2015). O vírus Zika foi isolado, pelo Instituto Adolfo Lutz, de um paciente que recebeu transfusão sanguínea contaminada de um doador, e foi confirmado pelo Instituto Evandro Chagas que a linhagem do vírus era muito semelhante com a isolada na Polinésia (Zorzetto, 2016).

1.2. Transmissão

A transmissão do ZIKV é classicamente consequência da picada de mosquitos do gênero *Aedes*. Adicionalmente, este vírus tem sido repetidamente isolado de mosquitos colhidos em África e na Ásia, o que sugere que espécies como *Ae. africanus*, *Ae. aegypti* e *Ae. hensilli* participam na sua manutenção no ambiente selvático (Ledermann et al., 2014).

Estes artrópodes encontram-se amplamente distribuídos em zonas tropicais, subtropicais (*Ae. Aegypti*) e temperadas (*Ae. albopictus*), o que possibilita um enorme contingente de indivíduos suscetíveis (Grard et al., 2014).

Menos frequentemente, já foi descrita a transmissão por via sexual, perinatal e por hemotransfusão. Ainda não se tem a dimensão da importância epidemiológica

destes mecanismos outros mecanismos (Besnard et al., 2014; Musso et al., 2015b, 2015a)

Entre os indivíduos infectados, evidências de ZIKV foram detectadas no soro, saliva, urina, sêmen (Oliveira et al., 2018) e leite materno. Geralmente, a transmissão de anticorpos através do leite materno foi descrita, particularmente para IgA, conferindo imunidade passiva. A presença de anticorpos IgA, IgG ou IgM contra flavivírus semelhantes, como o vírus do Nilo Ocidental, foi relatada no leite materno (Colt et al., 2017).

A transmissão por relações sexuais tem sido sugerida também (Foy et al., 2011). Foi descrita em um paciente que foi infectado com ZIKV no sudeste do Senegal em 2008. Depois de retornar à sua casa em Colorado, Estados Unidos, ele experimentou sintomas comuns de infecção por ZIKV e sintomas de prostatite. Quatro dias depois, ele observou sinais de hematospermia, e no mesmo dia, sua esposa apresentava sintomas de infecção por ZIKV. Como a esposa do paciente não havia viajado para fora dos Estados Unidos durante o ano anterior e teve relações sexuais com ele 1 dia depois de retornar para casa, a transmissão por sêmen foi sugerida. A infecção por ZIKV do paciente e sua esposa foi confirmada por testes serológicos, mas a presença de ZIKV no sêmen do paciente não foi investigada. Há outros trabalhos que detectaram uma carga de RNA ZIKV elevada e ZIKV replicativo em amostras de sêmen, mas ZIKV permaneceu indetectável pela rRT-PCR na amostra de sangue coletada ao mesmo tempo (Musso et al., 2015b).

A transmissão perinatal de arbovírus foi relatada para DENV, vírus *Chikungunya* (CHIKV), vírus do Nilo Ocidental (WNV) e vírus da febre amarela (YFV). A transmissão do leite materno foi relatada para DENV e WNV e foi suspeita para a cepa vacinal de YFV. Foram relatadas consequências graves da transmissão materno-fetal de arbovírus, notadamente para CHIKV (encefalopatia e febre hemorrágica) e DENV (parto prematuro, morte fetal, baixo peso ao nascer, anomalias fetais, prematuridade e dificuldade fetal aguda durante o parto). Em 2016 quando foi identificado no líquido amniótico de dois fetos com anormalidades do sistema nervoso, o vírus Zika, teve sua primeira evidência de transmissão vertical (Oliveira et al., 2016). Foram relatadas alterações e malformações em bebês expostos durante a gestação. As possíveis rotas de transmissão perinatal são transplacentárias, durante o parto, durante a amamentação e pelo contato próximo entre a mãe e o recém-nascido (Besnard et al., 2014).

1.3. Manifestações clínicas

Em humanos a infecção pelo vírus do Zika é caracterizada por febre moderada, artralgias notável nas articulações de mãos e pés, mialgias, cefaleia, dor retro ocular, conjuntivites e um *rash* maculopapular, porém na maioria dos casos a infecção pode ser assintomática ou com muita pouca sintomatologia pelo que pode ser mal diagnosticada. Manifestações da doença, tais como hemorragias, não tem sido reportada (Gourinat et al., 2015).

O período de incubação da doença varia de três a 12 dias após a picada do mosquito infetado como foi semelhantemente descrito para outras arboviroses. As manifestações clínicas são inespecíficas, sendo frequente uma síndrome ‘tipo-dengue’. Infecções assintomáticas também são descritas. Os pacientes, às vezes, evoluem com um quadro febril inespecífico e autolimitado sem exantema. As descrições de casos da doença em África caracterizaram a doença por ZIKV como um episódio febril de início agudo, acompanhado de cefaleia discreta, surgimento de exantema maculopapular pruriginoso, no segundo dia, acometendo a face, o tronco, os membros, as palmas das mãos e as plantas dos pés (Paixão et al., 2016)

A febre cede um dia ou dois dias após o aparecimento do exantema, que pode persistir por mais dois a 14 dias. Habitualmente a febre é baixa, mas em alguns casos relatados no Brasil foi elevada, chegando a 39º C. São relatadas mialgia, dores articulares e dor lombar discreta, mas diferentemente dos casos de *Chikungunya* e do dengue. Geralmente o seu desaparecimento ocorre cerca de uma semana, com duração média de três a cinco dias (Pinto Junior, Luz, Parreira, 2015). A conjuntivite tem sido frequentemente relatada e, caracteristicamente, não apresenta secreção purulenta. Podem ocorrer outras manifestações inespecíficas como anorexia, náuseas, vômitos, vertigem, dor retro-orbital e manifestações respiratórias altas. Pode considerar-se que a infecção pelo ZIKV tem evolução benigna (Pinto Junior, Luz, Parreira, 2015).

Assim como na epidemia que ocorreu na PA, no Brasil têm-se registado muitos casos de Síndrome de Guillain-Barré (SGB). O mecanismo desencadeador desta condição ainda não é conhecido, sendo provável um fenômeno de autoimunidade (Pinto Junior, Luz, Parreira, 2015).

A infecção pré-natal por ZIKV causa comprometimento oftalmológico grave, além de más-formações no SNC, como microcefalia e atraso do

neurodesenvolvimento (Tsui et al., 2018), com taxas de resultados adversos superiores a 40%, durante a gravidez (Eppes et al., 2017). Alguns fatores oftalmológicos relacionados ao ZIKV são alterações estruturais oculares (microftalmia, coloboma), cataratas calcificações intraoculares e alterações fundoscópicas como atrofia coriorretiniana, atrofia/anomalias nervosas, anomalias do disco óptico, unilaterais microcórnea, alterações vasculares, pontos focais da retina, atenuação dos vasos retinianos e alterações da pigmentação macular, incluindo palidez (Moore et al., 2015; Ventura et al., 2017; Tsui et al., 2018; Zin et al., 2018). Infelizmente os efeitos da exposição do ZIKV no desenvolvimento visual ainda não foram adequadamente caracterizados, em especial nas crianças que não apresentaram microcefalia (Baran et al., 2019).

Freitas (2016) mostrou relação entre o vírus da Zika e as alterações visuais em recém-nascidos. Junto a esta pesquisa, a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) e a Fundação Altino Ventura (FAV), em Pernambuco, comprovaram também, que o vírus da Zika pode ser o causante de lesões irreversíveis na macula ocular que afetam a retina e o nervo ótico, podendo ocasionar a perda de visão, nos bebês com microcefalia (Miranda-Filho et al., 2016). Entre as lesões mais comuns têm sido reportados casos de estrabismo neurológico, atrofia e manchas na retina (Campos et al., 2015). Segundo Ventura (2016), estes tipos de lesões são muito específicos e não são encontradas em outros tipos de microcefalias, mas sim nos casos de contágio pelo Zika. Inclusive em bebês que não apresentam a microcefalia podem ser observadas as alterações na retina e no nervo ótico.

Durante a epidemia brasileira de ZIKV, os clínicos observaram um aumento de 20 vezes em casos suspeitos de microcefalia em recém-nascidos. A microcefalia notificada e/ou malformações do sistema nervoso central afetaram 7.150 indivíduos no Brasil entre 22 de outubro de 2015 e 16 de abril de 2016. Outros flavivírus não são conhecidos por causar microcefalia, no entanto, o ZIKV foi confirmado em recentes casos de microcefalia (Cugola et al., 2016), o que provocou preocupação global para mulheres grávidas e uma investigação em larga escala. Um relatório recente da OMS indicou que há consenso científico de que o vírus Zika é uma causa da microcefalia e de Síndrome de Guillain Barre. Muitas mães de lactentes com microcefalia não relataram nenhuma doença ou sintomas associados à infecção por Zika. Independentemente dos sintomas, as gestantes estão em risco de infecção e complicações em potencial em qualquer trimestre (Colt et al., 2017).

A microcefalia congênita é um diagnóstico descritivo, o que significa que a circunferência frontal occipital da cabeça do recém-nascido cai abaixo da circunferência normal para idade gestacional, sexo e raça. A cabeça pequena é o resultado de uma desordem do desenvolvimento neurológico. Quando o cérebro fetal não aumenta normalmente em tamanho, o crânio também não crescerá e as suturas entre os ossos que compõem o crânio podem fechar prematuramente. O diagnóstico é muitas vezes feito pré-natal porque a circunferência da cabeça é uma medida padrão quando o crescimento fetal é monitorado com ultrassonografia. De acordo com a OMS, a microcefalia é definida como uma circunferência de cabeça igual ou inferior a dois desvios padrão abaixo da média ($\leq -2SD$) para idade e sexo ou menos do que o segundo percentil. A circunferência da cabeça que cai abaixo do $-3 SD$ às vezes são referidas como microcefalia grave. Existe uma associação entre a gravidade da microcefalia e a gravidade do comprometimento neurológico (ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2015)

Durante a epidemia que começou no norte do Brasil o sangue do cordão umbilical de mães grávidas que as crianças tinham microcefalia foi isolado o ZIKV. Foram examinadas duas mulheres grávidas do estado da Paraíba, cujos fetos tinham microcefalia e estas mulheres apresentavam sintomas relacionados com a infecção pelo vírus A amniocentese e subsequente PCR (reação em cadeia da polimerase, do inglês, *polymerase chain reaction*) analisados na Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro foi positiva para Zika vírus em ambas as pacientes. Provavelmente, estes casos representaram os primeiros diagnósticos de transmissão intrauterina do vírus (ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2015).

Em uma pesquisa realizada em bebês com microcefalia no estado de Bahia, Brasil foram demonstradas severas anormalidades oculares. Foram descritas alterações tais como atrofia do nervo ótico, cicatrizes e manchas na retina, anormalidades do disco óptico. Também subluxações das lentes do olho, e coloboma do íris (Freitas et al., 2016).

Conjuntamente com essas alterações no fundo do olho e na estrutura do olho foi também descrita a Síndrome do Vírus do Zika. A característica comum desta nova síndrome, e da microcefalia congênita se apresenta inclui desproporcionalidade facial (o rosto parece grande em comparação com a cabeça pequena). Normalmente, os recém-nascidos têm preservados os reflexos arcaicos; a maioria se alimenta bem, embora alguns tivessem disfagia. As anormalidades no exame neurológico incluem

hipertonia ou espasticidade, hiperreflexia, irritabilidade, tremores e convulsões. As neuroimagens muitas vezes revelam calcificações, ventriculomegalia e distúrbios. A audição e as anormalidades visuais parecem estar presentes, embora apenas um pequeno número tenha sido testado. A hérnia umbilical, o pé do pé (talipes equinovarus) e a artrorinoposis foram descritas, provavelmente a maioria das anormalidades neurológicas. Houve 68 óbitos notificados até à data (entre óbitos mortos e mortalidade precoce), desta forma o vírus do Zika foi comprovado como teratogênico (Miranda-Filho et al., 2016).

Em estudos *in vitro* recente foi demonstrado que o vírus do Zika infecta célula progenitoras neuronais, neurônios (Cugola et al., 2016, Rosa-Fernandes et al., 2019) e organoides (Cugola et al., 2016) derivadas de células-tronco pluripotentes humanas (HPSC) induzindo a morte celular destas por efeito de citotoxicidade (Cugola et al., 2016; Dias et al., 2016).

1.4. Diagnóstico laboratorial

Pelo fato de não existir, até ao presente, de testes comerciais que permitam o diagnóstico sorológico de infecções por ZIKV, o diagnóstico da infecção aguda precisa ser realizado por meio de RT-PCR (Brasil et al., 2016) (amplificação por reação em cadeia da polimerase, antecedida de transcrição reversa), a partir de RNA extraído do soro do doente, o qual precisa ser preferencialmente colhido até o sexto dia de doença. (Fréour et al., 2016).

O vírus também pode ser detectado por meio de técnicas moleculares aplicadas em outros fluidos corporais como a saliva e a urina. Anticorpos IgM podem ser encontrados a partir do terceiro dia de doença e anticorpos IgG devem ser pesquisados no soro quando a doença está em estágio agudo e quando o paciente está convalescente (Fréour et al., 2016).

Um problema em relação aos testes sorológicos é a possibilidade de reação cruzada como resultado de infecções prévias por outros flavivírus. A ocorrência de epidemias de ZIKV em territórios onde previamente haja circulação do vírus dengue pode representar desafio diagnóstico (Pinto Junior, Luz, Parreira, 2015; Fréour et al., 2016).

Apesar da existência de testes diagnósticos, seu uso ainda é bastante restrito por não haver kits comerciais disponíveis no mercado. Portanto, o diagnóstico é

limitado às instituições governamentais ligadas à vigilância em saúde, ou instituições de ensino e investigação. A detecção de genomas virais por RT-PCR é o método mais sensível e específico para permitir um diagnóstico de infecções a ZIKV, no entanto esses métodos não são totalmente confiáveis (Pinto Junior, Luz, Parreira, 2015).

1.5. Tratamento

Não existem vacinas nem medicamentos antivirais específicos, sendo o tratamento somente para amenizar os sintomas. Os profissionais de saúde devem estar cientes e treinados para diferenciar a doença e tratar ela.

1.6. Desenvolvimento Visual

O desenvolvimento infantil é um processo contínuo e muito dinâmico que inclui entre outras muitas funções, a visão. A evolução da visão inicia-se na vida intrauterina e continua após o nascimento. Este processo é sempre influenciado por fatores de maturação neurológica e ambientais. Quando a criança nasce, tanto o sistema nervoso central quanto o sistema ocular são ainda imaturos pelo que são necessárias experiências visuais para que ambos se desenvolvam. Desta forma, os primeiros anos de vida são considerados críticos para o desenvolvimento da visão. As experiências vivenciadas são fundamentais para a formação e o fortalecimento das conexões cerebrais responsáveis pela visão (Ministério da Saúde, 2016).

Estudos têm demonstrado que o desenvolvimento adequado da visão depende da integridade não só das estruturas oculares, como também das radiações ópticas, de diferentes áreas corticais e subcorticais. Em todo este desenvolvimento o cérebro é o responsável pela análise e interpretação das informações captadas pelos olhos pelo que qualquer evento nocivo às estruturas, durante o seu período de desenvolvimento, pode acarretar prejuízos em sua função ao mesmo tempo em que estes prejuízos trazem dificuldades e limitações para a criança na realização de suas atividades cotidianas e cognitivas. Desta forma, o bebê com perda da capacidade visual pode sofrer problemas sociais de integração e socialização. Vale destacar que todo recém-nascido (RN) nasce com baixa visão, porém o sistema visual desenvolve-se, conforme os estímulos visuais aos quais é exposto. Nas primeiras semanas de

vida, a retina, as vias ópticas e córtex visual têm um rápido desenvolvimento, sendo o primeiro ano de vida o período evolutivo de maior importância (Ministério da Saúde, 2016).

O sistema visual do recém-nascido humano é imaturo do ponto de vista funcional. Estudos relataram que essa imaturidade funcional se deve, em parte, a causas anatômicas e fisiológicas. Eles mostraram que os segmentos internos dos cones em recém-nascidos são largos e curtos, já nos adultos eles mudam e são finos e compridos. Além disso, mostraram que os segmentos externos dos cones são mais curtos em recém-nascidos do que em adultos. Esse fato faz com que os raios de luz que refletem nas paredes do segmento interno tenham ângulos agudos e não possa alcançar o segmento externo, o que diminui a absorção de energia eletromagnética e reduz a acuidade visual (Banks e Bennett, 1988).

Desde o nascimento do bebê, o tamanho do olho pode aumentar até três vezes, e esse crescimento é concluído aproximadamente aos 3 anos de idade; sendo que um terço do crescimento do diâmetro ocular vai ocorrer durante o primeiro ano de vida. (Lewis e Maurer, 2005). Diferentes e determinadas áreas do cérebro humano, assim como diferentes processos de percepção visual, são responsáveis por funções específicas, tais como a percepção de movimento, cor e profundidade. Existem até regiões cerebrais específicas que lidam apenas com apenas uma função. Danos cerebrais localizados em lugares específicos podem levar a distúrbios. Portanto, a avaliação do sistema visual pode ser um ponto de partida para estudar possíveis distúrbios do desenvolvimento do cérebro (Farroni e Menon, 2013). É muito difícil definir se as alterações no sistema visual dos bebês durante o desenvolvimento são causadas pelas limitações próprias estruturais do olho ou por imaturidade da retina, vias visuais etc. O fato é que a capacidade de percepção deles vai melhorando significativamente até aproximadamente os 7 anos de idade (Farroni e Menon, 2013).

Em termos gerais a sensibilidade ao contraste e a acuidade visual medida em termos psicofísicos amadurece por volta dos 5 a 6 anos de idade nos humanos. Medidas comportamentais mostram que ambas as funções melhoram quase ao mesmo tempo, mas estudos eletrofisiológicos sugerem que a sensibilidade amadurece mais cedo (Banks e Bennett, 1988).

Nas últimas décadas, houve avanços consideráveis na nossa compreensão do desenvolvimento da visão nos primeiros anos de vida. Hoje sabemos que a função visual inclui diversos aspectos que iniciam e amadurecem em momentos diferentes

da etapa de crescimento da criança, e que o nosso sistema visual inclui diversas áreas corticais e subcorticais, cada uma delas com uma função específica no processamento de informações visuais (Atkinson et al., 1981).

Atualmente é possível estabelecer o início e a maturação de cada aspecto do sistema visual em bebês normais, fornecendo dados regulatórios em função da idade da criança. (Allen et al., 1996). A utilização conjunta de técnicas de neuroimagem e de eletrofisiologia ajudou a esclarecer a relação entre as funções visuais e as diferentes áreas do cérebro. Existem evidências de que o desenvolvimento normal da visão em bebês depende não apenas radiações ópticas e o córtex visual primário, mas também outras áreas corticais, enfim da integridade de uma rede complexa (Atkinson et al., 1981).

Estudos confirmaram que o córtex assume o controle executivo dos módulos subcorticais, e sugeriram também que a função cortical envolve diferentes fluxos ao processar os aspectos específicos da informação visual. (Goodale e Milner, 1992). Além disso, outros estudos sugeriram um modelo, baseado em dois circuitos morfologicamente distintos, denominados parvocelular e magnocelular. Os dois circuitos, projetam-se para partes diferentes do córtex visual primário (V1), e logo continuam por circuitos corticais independentemente em direção à área de processamentos superiores, uma delas específica para cor (V4) e para a área de seleção de movimento (V5) (Polanen e Davare, 2015).

O sistema parvocelular ele é utilizado para formar e colorir a visão, e o sistema magnocelular apoia a percepção do movimento e determinados aspectos da visão estereoscópica. (Goodale e Milner, 1992).

No começo do século XIX, Mishkin e Ungerleider identificaram duas vias corticais para o processamento visual. Uma via envolve o córtex temporal inferior e suporta o reconhecimento de objetos, enquanto a outra envolve o córtex parietal posterior e suporta a localização de objetos. A teoria da via dupla resultante de processamento visual foi desenvolvida por Goodale e Milner (1992). Eles descreveram uma via visual ventral cortical recebendo entrada das camadas parvocelulares do núcleo geniculado lateral e projetando-se através das regiões ventrais do córtex visual para o lobo temporal e uma via visual dorsal com entrada magnocelular projetando-se através das áreas dorsais do córtex visual e da área V5 a o lobo parietal (Goodale e Milner, 1992; Braddick et al., 2000).

O fluxo ventral está preocupado com a percepção da forma (o que um objeto é), e o fluxo dorsal suporta a percepção do movimento, localização do objeto e controle visuomotor (como interagir com um objeto). Embora essas vias visuais corticais diferem em suas especializações funcionais, elas são interligadas e dependem de várias áreas corticais comuns. (Braddick et al., 2000).

A função visual normal depende da integridade dessas duas vias visuais intactas: as vias anteriores, que incluem os olhos, nervos ópticos e quiasma, e as vias posteriores (também chamadas de genículo-estriadas), que incluem o corpo geniculado lateral, radiações ópticas e primárias e córtices visuais. (Goodale et al., 1994).

A informação visual é então transmitida aos córtices de associação, responsáveis pela interpretação do significado, ou ao sistema visual extra geniculado que está envolvido na detecção do movimento, na localização de um objeto no espaço ou no controle de uma resposta. As regiões corticais envolvidas no processamento visual de ordem superior incluem os lobos temporais parietais e inferiores (Mishkin et al., 1983).

A maturação das capacidades visuais dos componentes do sistema nervoso central em neonatos depende do desenvolvimento dessas vias visuais, incluindo aquelas no córtex visual localizado no lobo occipital do cérebro, e no núcleo geniculado lateral (LGN) no tálamo, e no desenvolvimento sináptico do cérebro. Neurônios ligando os olhos com o LGN e o córtex visual (Allen et al., 1996). O LGN é imaturo ao nascer e um rápido aumento nas superfícies pós-sinápticas é observado nos primeiros meses após o nascimento, desacelerando em 2 anos. A sinaptogênese no córtex também é rápida após o nascimento, com uma densidade sináptica máxima cerca de 8 a 9 meses, seguida por uma perda de sinapses, estabilizando-se em cerca de 11 anos (Hendrickson, 1994). Um recém-nascido tem aproximadamente três vezes menos cones no nascimento do que na idade adulta, o que explica parcialmente a visão embaçada (Hendrickson, 1994).

A poda subsequente do supercrescimento inicial refere-se a um período de alterações fisiológicas e comportamentais na função visual e o risco de desenvolvimento de ambliopia é maior durante este período. Embora o significado funcional preciso para a perda de sinapses não seja claro, pensa-se que esteja relacionado com a redução da plasticidade do SNC à medida que o sistema nervoso amadurece (Hendrickson, 1994).

Desenvolvimento estrutural do olho inclui a maturação da região da mácula da retina, a maturação da fóvea e o crescimento do globo ocular (Kozma et al., 2001; Lewis e Maurer, 2005). Enquanto a retina periférica é relativamente madura ao nascimento, diferenciação e maturação da fóvea (que é responsável pela visão central e tem a maior acuidade visual) e as camadas da mácula retiniana (responsáveis por cores e contrastes, acuidade visual precisa e visão estereoscópica) começa às seis semanas e continua até os oito meses de idade (Hendrickson, 1994; Kozma et al., 2001; Lewis e Maurer, 2005).

Imaturo no nascimento a termo, o sistema visual continua a se desenvolver nos primeiros anos de vida. No desenvolvimento normal, a taxa de crescimento do globo ocular está ligada ao crescimento infantil e, portanto, a emetropização ocorre como uma parte natural do processo de crescimento. (Kozma et al., 2001). A densidade do cone foveal, importante para uma visão precisa e detalhada, aumenta de 18 cones / 100mm em 1 semana pós-natal para 42 cones / 100mm em adultos. A migração do cone da periferia da retina para a área da mácula contribui para o aumento da densidade. Em geral, o crescimento do globo ocular é mais rápido em crianças menores e diminui com a idade. (Lewis e Maurer, 2005).

Um estudo de ressonância magnética de fetos e crianças de 0 a 13 anos mostra uma rápida curva de crescimento do globo ocular no útero e do nascimento aos 18 meses. Durante o processo de emetropização, há um aumento na luz com foco na retina, como resultado do aumento do comprimento axial do globo ocular, aplanção da córnea e redução da refração da lente. Esse fenômeno explica a relativa baixa hipermetropia em neonatos com comprimento axial ocular curto que se tornarão adultos emetrópicos (Kozma et al., 2001).

Enquanto a mielinização dos nervos ópticos, o desenvolvimento do córtex visual e o crescimento do corpo geniculado lateral ocorrem durante os primeiros 2 anos; mudanças maturacionais na retina continuam bem na infância. (Kozma et al., 2001; Lewis e Maurer, 2005). A mielinização nas regiões do cérebro que sustentam a função visual cortical continua até a infância, embora dentro do sistema visual primário, isso esteja amplamente maduro aos 5 anos de idade. A substância cinzenta apresenta aumentos de espessura até cerca de 8 anos de idade e, em seguida, mostra afinamento gradual, devido à poda seletiva até a idade adulta. (Kozma et al., 2001).

Estudos demonstraram a existência de períodos sensíveis durante os quais os bebês são mais vulneráveis a anomalias de desenvolvimento visual e requerem informações visuais normais para o desenvolvimento normal; no entanto, o tempo específico do período sensível do desenvolvimento visual varia dependendo do aspecto específico da visão sendo considerada.

1.7. Sensibilidade ao Contraste

A Importância da Função de Sensibilidade ao Contraste baseia-se na habilidade do homem e outros animais de perceber os detalhes dos objetos ou de uma cena visual, essa função é determinada basicamente pela capacidade de seus sistemas visuais de distinguir contraste, isto é, diferenças de brilhos de áreas adjacentes. É claro que não se pode desprezar a importância, por exemplo, da configuração do estímulo, do tamanho da imagem visual projetada na retina, dentre outros fatores ópticos e psicofísicos (p. ex., erro refrativo, aberrações esféricas, acomodação, diâmetro da pupila, luminância), fisiológicos (p. ex., distribuição dos receptores na retina, fator de magnificação cortical) e psicológicos (p. ex., estado de atenção) que também exercem um papel marcante na percepção visual da forma ou na resolução espacial de detalhes (Santos e Simas, 2001)

O conceito de Função de Sensibilidade ao Contraste (FSC) se expressa como a sensibilidade ao contraste que é definida na literatura como a função recíproca da quantidade mínima de contraste necessária para detectar uma grade de uma frequência espacial específica. Em outras palavras, a FSC é, por definição, o inverso da curva do limiar de contraste ($1/FSC$). Logo, a sensibilidade ao contraste está relacionada à diferença existente entre picos e depressões das ondas. Essa diferença traduz o valor de contraste requerido pelo sistema visual, para distinguir um estímulo de frequência espacial daquele com um campo uniforme de luminância média. Assim, o sistema visual (SV), possui alta sensibilidade quando um padrão precisa de pouco contraste para ser detectado. O inverso, baixa sensibilidade, quando o SV precisa de alto valor de contraste para detectar o estímulo. A FSC ou a $1/FSC$ geralmente estima a sensibilidade ao contraste de grades (ou qualquer padrão) como uma função de sua frequência espacial (Schwartz, 2004).

Neste sentido, uma característica marcante da FSC advém do fato que ela descreve o desempenho do sistema visual em níveis diferentes de contrastes. Isso a

difere de medidas clássicas como acuidade visual (AV), que geralmente descreve o desempenho do SV em contraste muito alto (letras pretas sobre um fundo branco). A AV é a capacidade do SV de discriminar detalhes finos de objetos, ou ainda, o limite perceptual que considera como distintos dois pontos muito próximos.

Considerando que o processamento de contraste pelo SV pode ocorrer em todos os níveis no dia a dia, inclusive podendo chegar a um ponto onde o objeto como um todo poderá não ser visto devido ao contraste muito alto ou muito baixo, a FSC é uma função muito eficiente para caracterizar a resposta do SV. Consequentemente, determinar o limiar de contraste para estímulos com configurações distintas, como por exemplos estímulos radiais, angulares, grades senoidais, dentre outros é uma maneira diferente de caracterizar a resposta ou o comportamento do SV. Criteriosamente, a FSC fornece o limite entre o mundo a baixo contraste, que é, entretanto, percebido, e um mundo a baixo contraste, que não se vê em determinadas condições. Ao passo que a AV representa o limite de resolução do sistema visual para detectar e reconhecer um estímulo de frequência espacial alta e em nível de contraste alto (Santos e Simas, 2001) Venkataraman e col. (2017) afirma que a sensibilidade periférica ao contraste mesmo semelhante à visão foveal, é mais alta para uma combinação de baixa frequência espacial e desvios de 5-10Hz. Em relação às frequências espaciais mais altas há uma diminuição na sensibilidade ao contraste com desvio de 15Hz e apesar desta diminuição, o ponto de corte da resolução não variou muito entre as diferentes frequências temporais testados.

Em resumo, a FSC é considerada a descrição mais completa da função visual. Ela fornece um sumário rápido e proveitoso da resposta global do SV para padrões de frequências espaciais e caracteriza o processo pelo qual o sistema visual transforma informações das várias frequências espaciais do estímulo de entrada (input) em estímulo percebido (output) (Kandel, 2014).

A AV e a FSC são funções relacionadas aos aspectos críticos da percepção visual da forma e de detalhes ou resolução espacial. A diferença é que a AV é um bom indicador dos fatores ópticos do olho, enquanto a FSC é um bom indicador, tantos dos fatores ópticos como dos fatores neurais da visão. Desta maneira, a FSC é uma das principais funções na avaliação do SV, quer seja do ponto de vista teórico quer seja do ponto de vista clínico (Santos e Simas, 2001). Por exemplo:

(1) A FSC pode ser utilizada para estudar o desenvolvimento do sistema visual ou da percepção visual da forma em crianças, pois muitos aspectos responsáveis

pelo surgimento da percepção visual, como em AV, FSC, visão binocular, dentre outros, estão todos reduzidos na infância, comparado ao do adulto. (Santos e Simas, 2001).

(2) A FSC pode caracterizar mecanismos ou canais sintonizados para frequências espaciais dentro do campo da pesquisa psicofísica e eletrofisiológica básica (Santos e Simas, 2001).

(3) A FSC também pode avaliar prejuízo na percepção visual, provocado por doenças degenerativas, desmielinização das vias visuais ou lesões corticais, como por exemplo, esclerose múltipla, estrabismo, albinismo, ambliopia, catarata, acromatas e doenças de Alzheimer e de Parkinson (Santos e Simas, 2001).

Em 1984, Ross e colaboradores relataram que a FSC parece ser o método mais sensível para mensurar o prejuízo de pacientes com glaucoma. Além de ser sensível a fatores ópticos e a alterações neuroftalmológicas, a FSC também é sensível ao hábito comportamental do animal, isto é, mamíferos noturnos e diurnos apresentam faixas de sensibilidades diferentes. Enfim, a forma e a dinâmica com que a FSC interage com as condições visualizadas permitem fortes inferências sobre processos comportamentais e fisiológicos básicos. Na prática, acreditamos que a AV e a FSC podem se complementar, pois pacientes com catarata inicial pode ter boa AV e reclamar de visão pobre, e isto acontece devido ao prejuízo visual estar relacionado a frequências baixas e médias e não a altas. Quando o prejuízo ocorre nas frequências baixas e médias, a FSC é o melhor indicador da capacidade do sistema visual. Por outro lado, a FSC tem um procedimento demorado e de difícil emprego clínico, ao passo que a AV tem um procedimento simples, rápido e muito eficaz principalmente quando o problema envolve prejuízos em frequências altas. Este problema pode ser contornado mediante estímulos, isto é, optótipos que levem em consideração a sensibilidade do SV ao contraste (Dos Santos, n.d.).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Neste projeto de pesquisa estudamos a relação entre a exposição intrauterina do Zika e o valor de sensibilidade ao contraste medidos em crianças.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolvimento do teste de psicofísica de sensibilidade ao contraste e normas do mesmo;
- Estudar a sensibilidade ao contraste em crianças saudáveis com idade entre 2 a 24 meses.

3. METODOLOGIA

O presente estudo está sendo desenvolvido no laboratório de visão do instituto de psicologia da USP conjuntamente com o Hospital Universitário de Jundiaí.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Psicologia da USP e pelo Comitê de ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Universitário de Jundiaí (número 1446577). Os responsáveis legais das crianças assinaram o Consentimento Informado 69975317.4.0000.5561 (Anexo 1).

Foram feitos testes de PCR e sorologia para a detecção da exposição ou infecção do ZIKV nas crianças e nas mães no laboratório do hospital universitário e as informações destas avaliações foram enviadas a nós, pela equipe do hospital.

As mães e crianças que participaram do presente estudo fizeram parte da Coorte Zika Jundiaí, um estudo de larga escala em andamento desde 2016. Dois grupos de mães fizeram parte desta coorte: (1). Um grupo assintomático composto por mães que procuraram atendimento ambulatorial durante a gravidez no Hospital Universitário de Jundiaí - Clínica de Gravidez de Alto Risco e concordaram em participar; e (2) um grupo sintomático composto por mães que procuraram o mesmo serviço e apresentaram sintomas consistentes com a infecção pelo ZIKV (como erupção cutânea, febre, artralgia e mialgia). Qualquer mãe assintomática que apresentasse esses sintomas após o recrutamento foi transferida para o grupo sintomático.

Os exames de RT-qPCR de amostras de urina e / ou sangue de mães de ambos os grupos foram realizados regularmente durante a gestação para verificar a infecção pelo ZIKV, de acordo com o protocolo descrito e realizado por Clemente et al. (em preparação). Também foram realizados testes sorológicos para a presença de anticorpos ZIKV IgG e IgM em amostras coletadas das mães, e foram utilizados como critério de diagnóstico se os resultados de RT-qPCR fossem inconclusivos.

3.1 Sujeitos

Foram testadas 60 crianças como parte de testes pilotos na busca do protocolo ideal para o projeto. Depois de alcançar esse objetivo foram testadas 77 crianças em total, delas 26 expostas e 51 controles com uma idade entre 2 e 24 meses.

As crianças foram separadas nesses dois grupos levando-se em conta os resultados obtidos de testes sorológicos e o PCR realizado tanto em crianças quanto nas mães, no laboratório do Hospital Universitário de Jundiaí. As crianças expostas foram as que tiveram as mães com resultados positivos para um dos dois testes, e as crianças infectadas foram as que tiveram PCR ou sorologia positivas.

Por se tratar de uma função que se modifica com o desenvolvimento em esta faixa etária e pelo número de bebês ainda ser pequeno para cada idade agrupamos os bebês de acordo com as idades que apresentam valores de contraste semelhante. Os bebês foram divididos em 4 grupos de acordo com a idade, sendo Grupo I (2-4 meses), Grupo II (5-9 meses), Grupo III (10-15 meses) e Grupo IV (>15 meses). Os dados dos bebês pertencentes aos Controles e aos Expostos estão apresentados no Apêndice 1.

3.2. Os critérios de inclusão foram:

- Ter mãe infectada com ZIKV durante o período gestacional;
- Avaliação oftalmológica normal;

3.3. Os critérios de exclusão são:

- Outras doenças sistêmicas associadas.

O grupo controle é formado por crianças da mesma idade clinicamente saudáveis.

Todas as crianças foram encaminhadas do serviço de Pediatria do Hospital Universitário de Jundiaí. Os testes foram feitos em visitas de uma vez no mês no hospital, em uma sala destinada para esse propósito. Nesse dia é levado o computador onde rodava o programa para o hospital.

3.4 Equipamento

Para fazer os testes foi utilizado o Programa de Psicofísica Psykinematix (KyberVision v.1.4.3). Este programa de computador específico para geração de estímulos e medidas psicofísicas é uma plataforma de construção de medidas

altamente intuitiva, porém, sem testes previamente construídos. Desta forma, parte de nosso trabalho foi o desenvolvimento do teste.

O programa roda em um computador iMac OSX (v.10.8.3), um monitor integrado de 21.5" com resolução de 1920X1080, frequência de 60 Hz, com distância de 60 cm do teste (compreende um campo de visão de 43X25°) e placa gráfica NVIDIA GT 640M. A luminância média é de 60,4 cd/m². As respostas foram registradas pelo teclado do próprio computador pelo experimentador.

A criança ficava sentada no colo da mãe olhando para o centro da tela do computador. O pesquisador ficava por trás do monitor acompanhando apenas o olhar da criança, sem saber para qual lado estava sendo apresentado o estímulo e apertava a tecla M se a criança olhava para a direita ou a Z se a criança olhava para a esquerda, como resposta ao estímulo apresentado. Este teste durava aproximadamente 5 minutos.

3.5 Estímulos

Inicialmente, pretendíamos avaliar 6 frequências espaciais, 0,25 / 0,5 / 1 / 3 / 6 e 9 cpq (ciclos por grau de ângulo visual), mas não foi possível por diversos motivos como teste era muito longo e as crianças não conseguiam acompanhar durante o tempo que durava o teste, frequências espaciais acima do limiar de crianças muito pequenas entre outros limites identificados. Elas ficavam muito irritadas e os resultados preliminares não foram confiáveis. Numa segunda fase de desenvolvimento do teste, optamos por testar só duas frequências espaciais, 0,6 e 2,0cpq deixando assim, o teste com uma duração ótima para as crianças acompanharem. Foram escolhidas estas duas frequências espaciais, pois nos primeiros 2 anos de idade a FSC para a frequência espacial 0,6cpq se desenvolve quase completamente comparado aos adultos. A frequência 2,0cpq foi escolhida pois nesta faixa etária ela se configura como uma frequência médio-alta diferindo muito dos adultos cujas frequências altas ocorrem entre 30 e 60cpq. O contraste inicial era de 80% mais ou menos 5% definidos automaticamente pelo sistema e aleatório para cada sessão de teste.

O limiar é definido por uma escada psicofísica de passo não-linear para garantir uma rápida localização da região do limiar, diminuindo muito o tempo de teste e o número de reversões para se chegar à fase estável da escada, local no qual se

localiza o limiar, com maior precisão de cálculo. Assim, a razão da modificação do passo da escada é de 50% do nível de contraste precedente até que ocorra a primeira reversão. Após este momento, os passos psicofísicos se modificam para 12,5% do nível de contraste anterior para a redução do nível de contraste e, em caso de resposta errada, retorno de 50% entre os níveis atual e anterior para aumento do nível de contraste. A taxa de reversão foi mantida simétrica em 1:1 entre aumento e diminuição do contraste. Decidimos a manutenção da simetria porque, neste nível de resposta, tínhamos garantido o limiar que equivale ao critério de acerto de respostas de 75.23%. Este valor de porcentagem de acerto é alto o suficiente para uma medida de precisão, sem que haja um prolongamento do tempo de teste. Numa rotina assimétrica de apenas 2:1, o limiar não se modificaria muito (79,8%), mas o tempo praticamente dobrava.

O estímulo utilizado é composto de uma grade de ondas senoidais multiplicada por um envelope gaussiano circular de 2° com valor de sigma de 1.5°. As grades foram sempre orientadas a 90°. Alguns dos estímulos deste teste podem ser observados nas figuras abaixo.

Figura 1. Exemplo da apresentação da frequência espacial 2 cpq com alto nível de contraste na metade direita da tela do computador.

Figura 2. Desenho apresentado entre um estímulo no centro da tela do, juntamente com uma música, com o objetivo de chamar a atenção das crianças para o ponto meio da tela até seja apresentada o estímulo testado num dos dois lados da tela do computador.

Figura 3. Exemplo da apresentação da frequência espacial 0,6 cpq com alto nível de contraste na metade esquerda da tela do computador.

Figuras 1 e 3 apresentam exemplos dos estímulos reais apresentados das frequências espaciais estudadas com diferentes níveis de contraste. O estímulo de

captura de atenção (Figura 2) buscava guiar o olhar para o centro da tela tinha duração de 2 segundos.

3.6 Procedimento

Utilizamos o método de escolha forçada espacial de 2 alternativas espaciais (2-AFC) como paradigma de apresentação do estímulo, assim, os estímulos podem aparecer à direita e à esquerda da região central do monitor. Definimos uma distância do centro de 6° de ângulo visual. Com a criança olhando para o centro do monitor e o experimentador localizado atrás deste, a tarefa do experimentador foi a de julgar para qual dos lados do monitor está o olhar da criança. Correspondentemente, pressionavam-se as teclas “z” (estímulo à esquerda) e “m” (estímulo à direita) de um teclado. Este arranjo garantia uma resposta de forma cega ao estímulo pelo experimentador, sem a necessidade da confirmação por 3° pessoa, requerida na condição clássica da medida. Foram utilizadas 6 reversões para o final do teste e as 4 últimas para o cálculo do limiar. Os estímulos ficavam na tela do monitor durante 30 segundos e entre um estímulo e o outro e apresentado um desenho no meio da tela do monitor para chamar a atenção ao meio da tela. Os testes foram feitos em sala escurecida, sem janelas, iluminada apenas pelo monitor, com este localizado a 60 cm da criança.

3.7 Análise Estatística

Foi realizado teste descritivo completo para cada grupo e faixa etária. Análises comparativas entre os grupos foram realizadas com bases nas diferenças entre os valores individuais dos grupos controle e exposto, por meio de Análise de Variância de 1 Via. Correlações entre idade e sensibilidade ao contraste foram realizadas pelo teste de *Spearman Rank Order* para cada grupo e frequências espaciais.

4. RESULTADOS

Os bebês foram divididos em 4 grupos de acordo com a idade, sendo Grupo I (2-4 meses), Grupo II (5-9 meses), Grupo III (10-15 meses) e Grupo IV (>15 meses). Os dados dos bebês pertencentes aos Controles e aos Expostos estão apresentados na Tabela 1, colunas da esquerda.

Tabela 1 - Valores descritivos de Sensibilidade ao Contraste nos grupos Controle e Exposto e nos Adultos

	Idade (meses)	N	0,6cpg				2,0cpg			
Grupo			Média (DP)	Mediana	Percentil 5	Percentil 95	Média (DP)	Mediana	Percentil 5	Percentil 95
Controles	2-4	15	3,65 (3,13)*	2,95	1,21	13,33	2,14 (1,19)	1,68	1,13	4,39
	5-9	22	3,62 (2,50)	2,96	1,33	5,49	5,04 (3,40)	3,35	1,45	11,96
	10-15	7	4,77 (2,85)	4,46	1,26	8,97	4,12 (3,35)	2,39	1,24	9,93
	>15	9	4,16 (2,11)	3,83	1,44	7,46	2,32 (1,18)	1,99	1,17	4,3
Expostos	2-4	4	1,56 (0,50)	1,38	1,18	2,29	1,56 (0,49)	1,45	1,14	2,18
	5-9	4	3,01 (2,48)	2,14	1,12	6,62	3,45 (2,59)	2,44	1,64	7,29
	10-15	6	4,35 (2,38)	3,84	1,91	7,72	10,88 (10,50)	6,91	1,63	27,47
	>15	10	6,34 (5,89)	5,01	1,34	21,79	8,90 (11,46)	6,01	1,55	40,49
Adultos		13	507,69 (174,62)	526	165,43	849,95	375,06 (54,82)	400,02	267,62	482,51

* Valores de Sensibilidade ao Contraste

A Análise de Variância de Uma-Via mostrou que não há diferenças estatísticas entre os bebês Expostos e Controle, para nenhum dos grupos etários e para nenhuma das frequências espaciais estudadas, Grupo I (0,6cpg $F= 1,69$, $p= 0,21$; 2,0cpg $F= 0,88$, $p= 0,36$; $\eta^2= 0,10$), Grupo II (0,6cpg $F= 0,20$, $p= 0,65$; 2,0cpg $F= 0,11$, $p= 0,75$; $\eta^2= 0,01$), Grupo III (0,6cpg $F= 0,08$, $p= 0,77$; 2,0cpg $F= 2,60$, $p= 0,13$; $\eta^2= 0,31$), Grupo IV (0,6cpg $F= 1,09$, $p= 0,31$; 2,0cpg $F= 2,92$, $p= 0,11$; $\eta^2= 0,18$).

Correlações entre idade (em meses) e valores de Sensibilidade ao Contraste não foram significantes para nenhuma condição de exposição ao vírus Zika e para nenhum grupo etário. No entanto, correlações significativas foram encontradas para as frequências espaciais 0,6cpg ($r= 0,25$, $p= 0,026$) e 2,0cpg ($r= 0,26$, $p= 0,021$) quando agrupamos os dados (Figura 1).

Figura 1

Uma vez que os dados não mostraram diferenças estatísticas, todas as demais análises serão realizadas com os resultados de ambos os grupos controle e expostos unidos.

A comparação dos valores de sensibilidade ao contraste entre os grupos etários não mostrou diferença significativa nem para a frequência 0,6cpg ($F= 1,76$, $p= 0,16$; $\eta^2= 0,07$) nem para 2,0cpg ($F= 2,52$, $p= 0,06$; $\eta^2= 0,07$). Porém, todos os grupos etários diferem significativamente dos resultados obtidos por adultos para ambas as frequências de 0,6cpg ($F= 37,57$, $p < 0,001$, $\eta^2= 0,64$) e 2,0cpg ($F= 37,57$, $p < 0,001$, $\eta^2= 0,64$), mostrados na Figura 2.

Figura 2

Criamos valores normativos para o nosso teste, considerando os diferentes grupos etários. Pelo número reduzido de crianças e da grande variabilidade, os valores normativos são apresentados em Mediana, Percentil 5% e 95%.

Avaliações longitudinais foram realizadas em 27 bebês. A diferença entre as datas da primeira e segunda avaliação foram por conveniência, dada a necessidade de retorno dos bebês para outras consultas ou por convite via contato telefônico.

Estes resultados estão apresentados na Figura 3, na qual a faixa cinza representa os valores normativos obtidos neste estudo.

Figura 3

5. DISCUSSÃO

5.1 Desenvolvimento de Teste Psicofísico

Um dos objetivos deste trabalho foi o desenvolvimento de um programa para medida de Sensibilidade ao Contraste em bebês e crianças não verbais. Buscamos otimizar nosso programa de medida para esta faixa etária, com base em muitas das características que ela nos impõe, como pouco tempo de atenção e colaboração instável. Por isso, escolhemos avaliar apenas duas frequências espaciais, 0,6 e 2,0 ciclos por graus (cpg) de ângulo visual. Estes valores formam baseados em estudos prévios que utilizaram diferentes formas de medidas de SC, como potencial visual evocado (Allen et al., 1996) e medidas psicofísicas utilizando o método de escolha forçada, assim como o nosso estudo (Atkinson, Braddick, Moar, 1977). Com base nos limites de acuidade visual e dos picos das funções de SC apresentadas nestes estudos, as frequências espaciais foram definidas para o nosso teste.

O teste que desenvolvemos na plataforma Psykinematix está realizando medidas psicofísicas de sensibilidade ao contraste de maneira eficiente, para bebês entre 2 e 18 meses de idade. Isso foi devido à escolha de parâmetros psicométricos eficientes para podermos, em curto prazo de tempo, obter medidas de SC que atingissem os índices de qualidade esperados para as medidas clínicas utilizadas em adultos. O passo assimétrico utilizado entre a primeira reversão, cuja redução de contraste era de 50% da distância entre contraste zero e contraste inicial (entre 75 e 85%), e as demais reversões que tinham um passo de 12,5%, garantia que as respostas obtidas por nós fossem correspondentes a um critério psicométrico de 75,23%, em uma medida 1:1. Optamos por manter uma rotina de um acerto e um erro, pois uma modificação de rotina para 2:1, ou seja, dois acertos para 1 erro, aumentava o tempo significativamente para próximo do dobro de tempo, e o critério para apenas 79,8%. Desta forma, os ganhos seriam muito pequenos para um aumento significativo de tempo, o que certamente, implicaria em perda de pacientes pela não colaboração.

Desta forma, nosso método se mostrou como uma ferramenta eficaz para estudos de sensibilidade ao contraste espacial de luminância nesta população. O desenvolvimento de métodos de medida de funções visuais em bebês e crianças não verbais é de grande importância, pois há pouca disponibilidade de metodologia

comportamental para esta faixa etária. O desenvolvimento deste programa de medida permitiu que realizássemos avaliações de sensibilidade ao contraste em bebês e crianças com Zika vírus, discutidos na próxima sessão desta discussão.

Outro resultado que mostra a robustez de nosso estudo está no fato dos resultados de nossas medidas estarem similares às medidas realizadas em bebês desta idade por outros pesquisadores para as mesmas frequências espaciais. Os valores de sensibilidade ao contraste para a frequência espacial de 0,6cp/g que encontramos são de 2,5 aos 6 meses, enquanto que aos 10 meses, foi de 5,4. Como mencionamos, estes nossos valores são semelhantes aos encontrados por Adams e col. (1992) e Atkinson, Braddick e Moar (1977).

O número de bebês controles não nos permitiu o desenvolvimento de valores normativos paramétricos. No entanto, o número permitiu o desenvolvimento de valores normativos com base em percentis. Para a criação de valores normativos, optamos por um critério mais conservador, entre 5% e 95% a fim de evitar falsos negativos. Desta forma, temos valores normativos que cobrem 90% da população com 95% de confiabilidade.

Em continuações futuras deste trabalho, buscaremos ampliar as medidas de sensibilidade ao contraste espacial de luminância para esta faixa de idade entre 2 e 48 meses para definirmos normas baseadas em valores paramétricos, cujo poder de inferência estatística, alcance populacional e tamanho de efeito podem ser calculados. Os valores normativos deste estudo estão, portanto, vinculados aos achados de normalidade percentuais para a população, sem precisão para inferências e isto não é um problema, dado que os valores dos bebês expostos intra-útero ao Zika vírus apresentam valores semelhantes aos dos controles. Neste caso, os pacientes que ficaram fora da faixa de normalidade devem ser analisados mais cautelosamente pois, em outras condições, poderão estar ainda que marginalmente, em valores normais.

5.2 Medidas em Bebês Expostos ao Zika Vírus

O ineditismo deste estudo deve ser o primeiro ponto a ser mencionado. Embora os surtos de infecção por Zika vírus terem ganhado evidência epidemiológica e da opinião pública recentemente, ela se deu por alterações graves que causou em diversas populações de bebês, como a microcefalia. Nossa abordagem buscou

identifica se a exposição ao Zika vírus, bem com sua infecção, poderiam afetar o sistema nervoso central, de forma sutil. Nossos dados têm mostrado que somente a exposição ao vírus não é fator importante para levar a alterações no sistema nervoso central, medidos pelo sistema visual.

Nossos resultados não mostraram haver diferenças estatísticas entre os bebês com e sem exposição ao vírus Zika. Estes nossos resultados, tem mostrado haver um desenvolvimento visual normal para a sensibilidade ao contraste para ambas frequências espaciais, está em consonância com outros estudos de nosso grupo, com a mesma população de bebês, os quais encontraram valores normais de acuidade visual para estas crianças expostas intra-útero ao vírus Zika (Baran et al., 2019).

A avaliação longitudinal realizada em alguns dos bebês mostrou também haver um padrão de desenvolvimento semelhante aos dos bebês controles, uma vez que estes se mantiveram dentro da faixa de normalidade tanto na primeira como na segunda medidas. Certamente, um acompanhamento longitudinal destas crianças por um período mais longo poderia identificar outros padrões de desenvolvimento, mas que, pelo limite de tempo imposto pelo período disponível para coleta de dados, não fomos capazes de acompanhar mais longamente.

6. CONCLUSÕES

As medidas de sensibilidade ao contraste em bebês com exposição ao Zika vírus não apresentaram redução da sensibilidade ao contraste em comparação com bebês não expostos.

Outra contribuição desse estudo é o desenvolvimento de um método computadorizado para medida de sensibilidade ao contraste em bebês. Este novo método tem demonstrado ser muito fácil de usar nas crianças e muito confiável nos resultados obtidos. Além disso, é um teste novo que vai poder ser utilizado no futuro para avaliar outras crianças de diferentes idades e com diferentes patologias.

7. REFERÊNCIAS

- Adams, R. J., Mercer, M. E., Courage, M. L., & Vanhofvanduin, J. (1992). A New Technique to Measure Contrast Sensitivity in Human Infants. *Optometry and Vision Science*, 69(6), 440-446.
- Allen D, Tyler C. W., Norcia, A. M (1996). Development of Grating Acuity and Contrast Sensitivity in the Central and Peripheral Visual Field of the Human Infant. *Vision Res* 36, 1945–1953.
- Atkinson J., French J., Braddick O. (1981). Contrast sensitivity function of preschool children. *Br J Ophthalmol* 65, 525–529.
- Atkinson, J., Braddick, O., Moar, K. (1977). Development of contrast sensitivity over the first 3 months of life in the human infant. *Vision Res.*, 17(9), 1037-1044.
- Banks, M. S., Bennett, P. J. (1988). Optical and photoreceptor immaturities limit the spatial and chromatic vision of human neonates. *J Opt Soc Am A* 5, 2059.
- Baran, L. C. P., da Costa, M. F., Vidal, K. S. (2019) Alterations in visual acuity and visual development in infants 1-24 months old either exposed to or infected by Zika virus during gestation, with and without microcephaly. *J AAPOS*; 23:215. e1-7. Volume 23 Number 4.
- Besnard M., Lastère, S., Teissier, A., Cao-Lormeau, V., Musso D. (2014). Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Eurosurveillance* 19, 20751.
- Braddick, O. J., O'Brien, J. M. D, Wattam-Bell, J., Atkinson J., Turner R (2000). Form and motion coherence activate independent, but not dorsal/ventral segregated, networks in the human brain. *Curr Biol* 10, 731–734.
- Brasil, P., Pereira, Jr., Moreira, M. E. (2016). Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. *The New England Journal of medicine*. 375;24. December 15.
- Campos, G., Bandeira, A., Sardi, S. (2015). Zika Vírus Outbreak, Bahia Brazil. *Emerg Infect Dis* 21, 1881.
- Cao-Lormeau, V. M. (2014). RE: Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis* 20, 1960.
- Colt, S., Garcia-Casal, M. N., Peña-Rosas, J. P., Finkelstein, J. L. Rayco-Solon P., Weise Prinzo, Z. C., Mehta, S. (2017). Transmission of Zika virus through breast milk and other breastfeeding-related bodily-fluids: A systematic review ed. Horstick O. *PLoS Negl Trop Dis* 11, e0005528.
- Cugola, F. R, Fernandes, I. R., Russo, F. B. (2016). The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature*.

Denniss, J., Scholes, C., McGraw, P. V., Nam, S. H., Roach, N. W. (2018). Estimation of Contrast Sensitivity from Fixational Eye Movements. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Nov 1;59(13):5408-5416.

Dias, J. L. M et al. (2016). experimental models. 534, 267–271.

Dos Santos, N. A. (n.d.). Topics in Perception and Visual Processing of Form: Visual Acuity.

ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), (2015). RAPID RISK ASSESSMENT Microcephaly in Brazil potentially linked to the Zika virus epidemic Main Conclusions Consulted experts ECDC internal response team.

Eppes C, Rac M, Dunn J, et al. (2017). Testing for Zika virus infection in pregnancy: key concepts to deal with an emerging epidemic. *Am. J. Obstet. Gynecol.* p. 216:209–225.

Farroni, T., Menon, E. (2013). Percepção visual e desenvolvimento inicial do cérebro. 1–6.

Faye, O., Freire, C. C. M, Iamarino, A., Faye, O., de Oliveira, J. V. C, Diallo, M., Zanotto, P. M. A., Sall, A. A. (2014). Molecular Evolution of Zika Virus during Its Emergence in the 20th Century ed. Bird B. *PLoS Negl Trop Dis* 8, e2636.

Foy, B. D, Kobylinski, K. C, Foy, J. L. C, Blitvich, B. J, Travassos da Rosa A., Haddow A. D., Lanciotti R. S., Tesh, R. B. (2011). Probable Non–Vector-borne Transmission of Zika Virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis* 17, 880–882.

Freitas, B. dP., de Oliveira Dias, J. R., Prazeres. J., Sacramento, G. A., Ko, A. I, Maia M., Belfort, R. (2016). Ocular Findings in Infants with Microcephaly Associated with Presumed Zika Virus Congenital Infection in Salvador, Brazil. *JAMA Ophthalmol* 134, 529.

Fréour T., Mirallié S., Hubert B., Spingart C., Barrière P., Maquart M., Leparç-Goffart I (2016). Sexual transmission of Zika virus in an entirely asymptomatic couple returning from a Zika epidemic area, France, April 2016. *Eurosurveillance* 21, 30254.

Goodale M a., Milner A. D. (1992). Separate visual pathways for perception and action. *Trends Neurosci* 15, 20–25.

Goodale, M, Meenan JP, Bühlhoff H. H, Nicolle D. A, Murphy K. J., Racicot C. I (1994). Separate neural pathways for the visual analysis of object shape in perception and prehension. *Curr Biol* 4, 604–610.

Gourinat, A-C., O'Connor O., Calvez E., Goarant C., Dupont-Rouzeyrol M. (2015). Detection of Zika Virus in Urine. *Emerg Infect Dis* 21, 84–86.

Grard G., Caron M., Mombo I. M, Nkoghe D., Mboui Ondo S., Jiolle D., Fontenille D., Paupy C., Leroy E. M (2014). Zika Virus in Gabon (Central Africa) – 2007: A New Threat from *Aedes albopictus*? ed. Charrel R. *PLoS Negl Trop Dis* 8, e2681.

Hendrickson, A. E (1994). Primate foveal development: A microcosm of current questions in neurobiology. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 35, 3129–3133.

Pinto Junior, V. L., Luz, K., Parreira, R. P. F. (2015). Vírus Zika: Revisão para Clínicos Zika Vírus: A Review to Clinicians. 28, 760–765.

Kandel, E. R. (2014). *Princípios de Neurociências - Kandel - 5ª Edição - 2014 - Ebook - Português - By Aclerton.*

Kozma P., Kovács I., Benedek G. (2001). Normal and abnormal development of visual functions in children. *Acta Biol Szeged Acta Biol Szeged* 45, 23–4223.

Lanciotti R. S, Kosoy O. L, Laven J. J, Velez J. O, Lambert A. J, Johnson A. J, Stanfield S. M., Duffy M. R. (2008). Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis* 14, 1232–1239.

Ledermann J. P., Guillaumot L., Yug L., Saweyog S. C, Tided M., Machieng P., Pretrick M., Marfel M., Griggs A., Bel M., Duffy M. R., Hancock W. T., Ho-Chen T., Powers A. M. (2014). *Aedes hensilli* as a Potential Vector of Chikungunya and Zika Viruses ed. Turell MJ. *PLoS Negl Trop Dis* 8, e3188.

Lewis T. L., Maurer D. (2005). Multiple sensitive periods in human visual development: Evidence from visually deprived children. *Dev Psychobiol* 46, 163–183.

Ministério da Saúde (2016). *Diretrizes de estimulação precoce Crianças de zero a 3 anos com Atraso no Desenvolvimento Neuropsicomotor Decorrente de Microcefalia.* Ministério da Saúde.

Miranda-Filho D. de B, Martelli C. M. T, Ximenes R. A de A., Araújo T. V. B, Rocha M. A. W, Ramos R. C. F, Dhalia R., França R. F de O., Marques Júnior E. T. de A., Rodrigues L. C. (2016). Initial Description of the Presumed Congenital Zika Syndrome. *Am J Public Health* 106, 598–600.

Mishkin M., Ungerleider L. G., Macko K. A. (1983). Object vision and spatial vision: two cortical pathways. *Trends Neurosci* 6, 414–417.

Moore, C. A, Staples, J. E, Dobyns W. B, et al. (2017) Characterizing the pattern of anomalies in congenital zika syndrome for pediatric clinicians. *JAMA Pediatr.* 171:288-95.

Musso D., Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A., Cao-Lormeau V-M (2015b). Potential Sexual Transmission of Zika Virus. *Emerg Infect Dis* 21, 359–361.

Musso D., Roche C., Nhan T-X., Robin E., Teissier A., Cao-Lormeau V-M. (2015a). Detection of Zika virus in saliva. *J Clin Virol* 68, 53–55.

Oliveira D. B. L, Durigon, G. S, Mendes E. A et al. (2018). Persistence and Intra-Host Genetic Evolution of Zika Virus Infection in Symptomatic Adults: A Special View in the Male Reproductive System. *Viruses.* 10(11): 615.

Oliveira Melo A. S, Malinger G., Ximenes R., Szejnfeld P. O, Alves Sampaio S., Bispo de Filippis A. M, et al. (2016). Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol*; 47:6–7.

Paixão E. S, Barreto F., da Glória Teixeira M., da Conceição N. Costa M., Rodrigues L. C. (2016). History, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Zika: A Systematic Review. *Am J Public Health* 106, 606–612.

Polanen, V., Davare M. (2015). Interactions between dorsal and ventral streams for controlling skilled grasp. *Neuropsychologia* 79, 186–191.

Rosa-Fernandes L, Cugola F. R, Russo F. B, et al. (2019) Zika Virus Impairs Neurogenesis and Synaptogenesis Pathways in Human Neural Stem Cells and Neurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. Volume 13, Article 64.

Santos, N. A dos., Simas M. L. de B. (2001). Função de Sensibilidade ao Contraste: Indicador da Percepção Visual da Forma e da Resolução Espacial. *Psicol Reflexão e Crítica* 14, 589–597.

Schwartz, S. H. (2004). *Visual Perception A clinical orientation*, 3ra edn. McGraw-Hill.

Tsui I., Moreira M. E. L., Rossetto J. D., et al. (2018). Eye Findings in Infants with Suspected or Confirmed Antenatal Zika Virus Exposure. *Pediatrics*. 142(4): e20181104.

Venkataraman A. P., Lewis P., Unsbo P., Lundström L. (2017). Peripheral resolution and contrast sensitivity: Effects of stimulus drift. *Vision Res*. Apr; 133:145-149.

Ventura C. V., Maia M., Bravo-Filho V., Góis A. L., Belfort R. (2016). Zika virus in Brazil and macular atrophy in a child with microcephaly. *Lancet* 387, 228.

Ventura L. O., Ventura C. V., Lawrence L, et al. (2017). Visual impairment in children with congenital Zika syndrome. *J AAPOS*; 21: 295-299.e2.

WHO (2016). Report zika situation neurological syndrom and congenital anomalies.

Zin A. A, Tsui I, Rossetto J. D, et al. (2018). Visual function in infants with antenatal Zika virus exposure. *J AAPOS*. 22:452-456.e1.

Zorzetto R. (2016). Zika em expansão. *Rev Pesqui FAPESP*.

8. ANEXOS

8.1 ANEXO A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Anexo 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Instituto de Psicologia

AVALIAÇÃO VISUAL DA FUNÇÃO DE SENSIBILIDADE AO CONTRASTE EM CRIANÇAS DE 3 A 18 MESES DE IDADE QUE AS MÃES TIVERAM ZIKA VIRUS NA GESTAÇÃO

Pesquisadores: Heydi Segundo Tabares; Prof. Dr. Marcelo Fernandes da Costa.

Gostaríamos de obter o seu consentimento para o menor _____, participar de uma pesquisa cujo objetivo é avaliar, em bebês de 3 a 18 meses, os possíveis efeitos da infecção por Zika vírus durante a gestação. Para isso, realizar-se-á um teste computadorizado para avaliar a função da sensibilidade ao contraste, função esta que é muito importante para a avaliação precoce do desenvolvimento do sistema nervoso da criança. As crianças serão encaminhadas pelo serviço de pediatria do Hospital Universitário de Jundiaí e divididas em dois grupos. O grupo controle será composto por crianças sem nenhuma doença ou alteração visual e o grupo exposto será escolhido através dos resultados da análise de sangue e serão encaminhados para avaliação. O teste consistirá na apresentação de estímulos subsequentes de barras verticais com diferentes espaçamentos e contrastes. Os estímulos serão apresentados em um monitor, a 60 (sessenta) centímetros de distância da criança, que poderá ser mantida no colo do (s) responsáveis ou pesquisador (es) durante toda avaliação. Estes estímulos aparecerão de forma aleatória em um dos lados da tela do monitor e a tarefa a ser desenvolvida pela criança é a observação do monitor. O pesquisador estará posicionado atrás do monitor e identificará o lado da fixação do olhar da criança, a duração total do exame não ultrapassará 10 minutos. A avaliação não é invasiva, no entanto, em raros casos há um leve desconforto causado pelo estímulo luminoso que desaparecerá após alguns minutos. Por outro lado, os benefícios obtidos através neste exame serão a avaliação neuropsicológica e a avaliação da visão espacial da criança. Os dados e

os nomes dos participantes são sigilosos e não serão divulgados. A participação nesta pesquisa é totalmente voluntária, dessa forma, não haverá recompensa financeira pela participação. Você poderá esclarecer suas dúvidas sobre quaisquer aspectos inerentes a esta pesquisa, bem como desistir da participação a qualquer momento sem haja penalização e/ou prejuízo ao cuidado com a criança.

Contato com os Pesquisadores: Universidade de São Paulo, Instituto de Psicologia, Departamento de Psicologia Experimental. Avenida Professor Mello Moraes, 1721 Bloco A sala D9 Butantã, CEP. 05508-900, São Paulo, SP – Brasil. Telefones: (11) 30914263 ou (11) 3091-1914 Fax: (11) 30914357. Comitê de Ética em Pesquisa - IPUSP: Av. Prof. Mello Moraes, 1.721 - Bloco G2º andar, sala 27 – Cidade Universitária – CEP: 05508-030 – São Paulo – SP – E-mail: ceph.ip@usp.br Tel. (11) 3091-4182.

Nome _____ do _____ Participante
 _____ Documento
 de Identidade _____
 Data de Nascimento ____/____/____ Sexo: () Feminino () Masculino Nome do
 Responsável _____ (Parentesco)
 _____ Documento de Identidade

Página 1 de 2

Data de Nascimento ____/____/____ Sexo: () Feminino () Masculino
 Endereço _____
 _ Nº _____ Complemento _____ Bairro _____ Cidade _____
 _____ CEP _____ Telefone(s) _____

Sua assinatura neste termo de consentimento indica que você autoriza filmagens durante os testes e concorda na utilização dos resultados dos testes para pesquisa. O presente documento será assinado em duas vias, sendo que uma ficará de posse do pesquisador e a outra do responsável pela criança.

“Declaro que, após ter sido totalmente esclarecido pelo (s) pesquisador (es) e ter entendido o que me foi explicado, consinto em permitir que o menor, sob minha responsabilidade, acima identificado participe do presente Projeto de Pesquisa”.

_____Assinatura do
Responsável _____ Assinatura do
Pesquisador
_____, _____ de _____ de _____.Dra. Heydi Segundo
Tabares

9. APÊNDICE

Os dados dos bebês pertencentes aos grupos Controles e Expostos.

Paciente	Data do test	Expostos(1) ou controle(0)	Idade(M)
E.R.G	05/10/2017	0	2
G.C.P	05/10/2017	1	11
G.S.V.P	05/10/2017	1	14
J.B	05/10/2017	0	7
M.M.F	05/10/2017	0	2
C.E.M.F	09/11/2017	1	18
C.H.B.S	09/11/2017	1	7
D.G.N	09/11/2017	0	7
F.L.C.C	09/11/2017	1	15
H.G.A.R	09/11/2017	1	16
M.A.S	09/11/2017	1	13
M.C.R.O	09/11/2017	0	8
R.M.R	09/11/2017	0	6
S.V.P	09/11/2017	0	10
S.V.S.T	09/11/2017	1	7
Y.C.R.O	09/11/2017	0	8
R.H.D.V	05/09/2016	1	3
H.A.S	15/09/2016	0	3
H.G.A.R.	15/09/2016	1	3
J.C.F.C	15/09/2016	1	2
K.E.S.P	15/09/2016	1	4
M.L.F.S	15/09/2016	0	4
M.V.C.N	15/09/2016	1	5
A.O.C	07/12/2017	0	6
B.S.F.B	07/12/2017	0	16
B.M.S.	07/12/2017	0	6
C.P.S	07/12/2017	0	9
C.H.B.S	07/12/2017	1	7
D.T.S	07/12/2017	1	10
E.P.C.S	07/12/2017	1	13
J.O.C	07/12/2017	0	6
J.M.P.S	07/12/2017	1	16
K.E.S.P	07/12/2017	1	18
K.C.T	07/12/2017	0	6
L.N.F.C	07/12/2017	1	18
M.C.S.C	07/12/2017	0	7
M.H.M	07/12/2017	0	18
P.F.R.S	07/12/2017	0	4
R.N.F.C	07/12/2017	1	18

R.H.D.V	07/12/2017	1	18
S.M.M	07/12/2017	0	8
T.L.A	01/03/2018	0	8
V.R.S.J	01/03/2018	0	3
H.B.S	01/03/2018	0	17
I.M.M.C	01/03/2018	1	18
I.V.A.O.	05/04/2018	0	17
N.M.S.O.	05/04/2018	0	6
J.A.O.C	05/04/2018	0	10
B.R	05/04/2018	0	3
K.M.V	05/04/2018	0	7
L.O.S	05/04/2018	0	3
S.Y	05/04/2018	0	9
B.V.T.S	07/06/2018	0	17
M.G.D.A	02/08/2018	0	11
M.R.O	05/07/2018	0	19
V.F.S	07/08/2018	0	7
J.O.G	11/10/2018	0	4
H.S.S.A	08/11/2018	0	24
H.C.N.S	13/09/2018	0	9
B.R	05/04/2018	0	4
L.O.G	07/11/2016	0	2
L.S.S	08/11/2018	0	7
S.Y.S	13/08/2017	0	7
N.R.I	05/07/2018	0	6
A.L.C	02/08/2018	0	4
H.M.S	06/12/2018	0	12
I.C.P	14/02/2019	0	19
J.O	02/08/2018	0	15
H.P.S	06/12/2018	0	12
S.L.F.S	03/05/2018	0	3
I.S.R	03/05/2018	0	3
D.M.Q.L	01/03/2018	0	11
A.C.A.S.O	03/05/2018	1	16
R.V.X.L	04/10/2017	1	18
N.R.S	03/05/2018	0	3
E.F.S	13/09/2018	0	7
I.S.G	08/11/2018	0	17

Dados de avaliações longitudinais

paciente	idade	st	0,6	st	2	idade	st	0,6	st	2
1	2	24,79	78,65	14,57	82,84	10	14,72	82,45	31,69	59,76
2	2	31,51	43,64	13,73	87,41	20,00	22,22	67,15	11,26	40,55
3	13	13,32	34,26	6,48	30,55	27	29,68	41,18	19,89	41,17
4	8	13,76	36,72	6,50	28,68	9,00	2,75	10,15	5,81	20,56
5	12	23,61	57,51	15,71	80,71	7	11,66	25,87	3,19	8,95
6	3	18,48	77,54	11,62	38,18	4,00	18,47	77,54	11,62	38,18
7	8	18,81	34,74	6,93	28,46	12	22,33	33,93	2,12	9,89
8	7	10,61	18,21	2,78	8,36	17,00	18,62	50,64	25,05	73,04
9	7	18,96	66,06	26,32	60,36	4	15,58	66,25	20,43	73,09
10	6	10,12	90,35	19,41	69,14	5,00	9,97	36,12	23,98	39,51
11	10	6,93	13,09	4,48	10,07	19	24,75	49,47	14,05	58,19
12	6	4,99	20,33	25,45	56,82	16,00	20,77	50,97	11,46	45,67
13	7	7	15,1	34,31	40,16	8	17,41	55,74	10,82	41,92
14	17	3,84	13,41	14,88	73,42	15,00	3,84	13,41	14,88	73,42
15	3	21,60	57,66	17,08	73,52	15	13,99	42,16	21,07	51,7
16	19	4,62	15,27	17,05	76,46	23,00	7,22	25,83	11,13	39,06
17	6	23,99	48,41	2,67	12,23	11	15,4	63,5	21,81	76,13
18	6	12,6	44,57	7,69	36,29	18,00	9,31	28,03	9,56	64,28
19	9	15,45	33,23	19,72	62,44	10	15,45	33,23	19,76	62,44
20	18	6,40	11,59	5,33	12,39	19,00	6,40	11,59	5,22	12,39
21	13	4,85	12,96	0,93	3,64	10	3,04	8,21	16,88	79,24
22	8	9,13	28,03	9,56	22,69	9,00	4,09	17,21	21,26	47,73
23	4	14,33	49,69	7,59	22,76	11	9,83	31,06	2,79	6,45
24	6	18,36	34,43	9,70	21,23	11,00	2,74	11,15	23,19	72,01
25	6	12,6	44,57	7,69	36,29	11	13,93	47,91	15,85	70,76
26	6	13,84	74,93	26,32	67,26	8,00	4,66	9,94	20,47	60,43
27	15	6,20	15,38	2,60	5,14	19	17,65	49,16	8,95	11,91